PRIMO CASO DI DEFICIT DI ADENOSINA DEAMINASI IDENTIFICATO CON IL PROGRAMMA DI SCREENING NEONATALE IN SICILIA OCCIDENTALE

Graci S[1], Santoro L[1], Arena R[1], Trizzino A[2], Trizzino A[2], Mosa C[2], Aronica T[1]
[1]CSN Sicilia Occ Osp Ped G Di Cristina PA, Palermo, Italy,
[2]UO Oncoematologia Ped ARNAS Civico PA, Palermo, Italy

XI CONGRESSO NAZIONALE SIMMESN, 2-3-4 DICEMBRE 2021 BOLOGNA

INTRODUZIONE/BACKGROUND:

Il deficit di adenosina deaminasi (ADA-SCID) appartiene al gruppo delle immunodeficienze severe combinate. L'ADA è un enzima coinvolto nella via metabolica delle purine, necessaria per la maturazione dei linfociti. La forma più comune (*early onset*) è dovuta all'assenza dell'enzima ADA che provoca sia difetti del sistema immunitario sia danni ad organi vitali diventando fatale nel primo mese di vita se non trattata tempestivamente. Esistono anche forme ad insorgenza tardiva (*delayed* e *late onset*), caratterizzate da una disregolazione immunitaria con gravi infezioni ricorrenti. In entrambe le forme già alla nascita si accumulano i metaboliti adenosina (ADO) e 2'deossiadenosina (d-ADO), usati come marcatori nel programma screening neonatale in spettrometria di massa tandem e introdotti nel nostro pannello nel 2018.

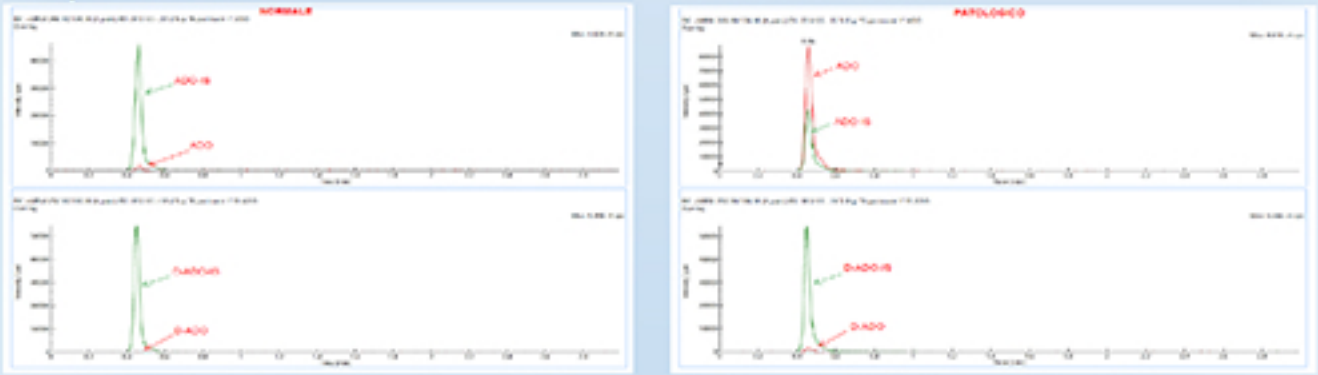

Fig.1: Cromatogrammi *second tier* test su DBS. L'analisi mostra l'assenza di d-ADO nel campione normale, mentre un incremento dei valori di d-ADO e ADO nel campione patologico.

METODO/PAZIENTI:

Nel CSN della Sicilia Occidentale sono stati sottoposti a screening per ADA-SCID 62.888 neonati. La determinazione di ADO e d-ADO è stata eseguita su DBS utilizzando la tecnica FIA-MS/MS. Il *second tier* test e la conferma su urine sono stati effettuati con colonna cromatografica C18 in LC-MS\MS a polarità positiva, utilizzando gli standard $^{13}C_5$-ADO e $^{13}C_5$-dADO .

Lo studio delle popolazioni linfocitarie è stato condotto mediante analisi in citometria a flusso multiparametrica all'avvio della consulenza e nel follow-up, coprendo 34 differenti sub-set di cellule immuni (dati non riportati)

	Screening	Consulenza	Ad 1 mese dalla nascita	A 4 mesi dalla nascita	VALORI NORMALI
WBC	N.A	8.48	7.21	6.97	3.6-10.2 (x10⁹/µl)
LINFOCITI	N.A	4.88	5.12	4.98	1.2-4.8 (x10⁹/µl)
CD3+T	N.A	3.7	3.78	3.89	0.78-3.3 (x10⁹/µl)
CD3+CD4+ TH	N.A	2.44	2.36	2.43	0.5-2.0 (x10⁹/µl)
CD3+ CD8+ TC	N.A	1.29	1.22	1.27	0.2-1.2 (x10⁹/µl)
CD3- CD16+56+ NK	N.A	0.69	0.53	0.50	0.1-1.2 (x10⁹/µl)
CD19+CD20+B	N.A	0.40	0.76	0.76	0.06-0.8 (x10⁹/µl)
PLASMACELLULE	N.A	0.09	1.3	0.41	% 0.1-4.8
MONOCITI	N.A	0.51	0.33	0.25	0.21-1.5 (x10⁹/µl)
NEUTROFILI	N.A	2.59	1.43	1.43	1.5-7.4 (x10⁹/µl)
EOSINOFILI	N.A	0.37	0.26	0.22	
IgG	N.A	NA	437	139	350-862 (mg/dl)
IgA	N.A	NA	26.5	<6.8	17-96 (mg/dl)
IgM	N.A	NA	20.8	20.1	30-185 (mg/dl)
ADO	2.2	13.2	26.9	12.8	. <2.48 µmol/l
d-ADO	0.14	0.35	0.32	0.28	<0.11 µmol/l
Mutazione ADA SCID	c.454 C>A Lon1526/ot				

Tab. 1: dti etablici, immunologici, citometrici e genetici relativi al caso di ADA-SCID identificato in FIA-MS/MS

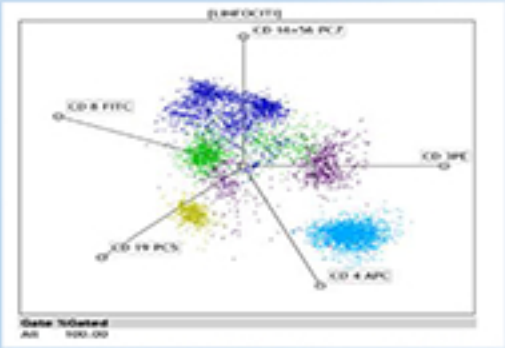

Fig. 2: Analisi preliminare delle popolazioni e sottopopolazioni linfocitarie usando la funzione radar del software di analisi per citometria a flusso KaluzaTM (beckman coulter). La figura mostra il pattern di distribuzione delle principali popopolazioni linfocitarie: linfociti T (CD3+) suddivise in CD4+ (T helper) (colore Celeste), e CD8+ (T-citotossici) (colore verde), linfociti B (CD19+) (colore arcu) e infineCD 16+56 (linfociti NK) (colore blu).

RISULTATI:

Riportiamo il primo caso di ADA-SCID identificato presso il nostro CSN di nato a termine, da genitori non consanguinei. Il test di screening mostrava livelli alterati di D-ADO e ADO con rapporto ADO/D-ADO suggestivo di ipotesi diagnostica *delayed onset*. Le alterazioni sono state confermate al *second tier* test. Al richiamo i valori di entrambi i marcatori risultavano aumentati su DBS e confermati su urina. All'anamnesi il paziente presentava buone condizioni generali, il test di proliferazione ai mitogeni PHA ed il numero di linfociti sono risultati nella norma. Nel corso del follow-up, non ha presentato episodi infettivi, sono stati monitorati i subsets linfocitari in citometria a flusso e dosate le immunoglobuline. All'età di 4 mesi è stata iniziata terapia sostitutiva con immunoglobuline per riduzione dei valori sierici di IgG al di sotto delle 2 DS dalla norma (vedi tabella). L'indagine molecolare ha confermato la diagnosi evidenziando la seguente mutazione in omozigosi: c.454 C>A.

DISCUSSIONE:

La nostra esperienza ha confermato che lo screening neonatale in spettrometria di massa tandem, attraverso il dosaggio dei marcatori ADO e d-ADO, consente di identificare precocemente anche i casi di ADA *delayed* e/o *late-onset*. L' identificazione del nostro primo caso, su un totale di 62.888 neonati sottoposti a screening, suggerisce che l'incidenza della malattia è sottostimata.

Bibliografia

1-L. Brown, J. Xu Byfield,F. Allwood, M.Slatter, A. Cant, E. G. Davies, P. Vora, A. R. Gennery, and H. Bobby Gaspar Neonatal diagnosis of severe combined immunodeficiency leads to significantly improved survival outcome: the case for newborn screening. BLOOD 2011;117:32-0-3216
3-M. Dorsey , and J. Puck. Newborn Screening for Severe Combined Immunodeficiency in the US: Current Status and Approach to Management. Int. J. Neonatal Screen. 2017, 3, 15
4-A. Kwan, MBBS,PhD, and J. M Puck, MD. History and current status of new born screening for severe combined immunodeficiency. Elsevier Inc 2015, 1-11
5-G. La Marca, E. Giusiduci, S. Malvagia, S.Funghini, D. Ombrone, M. L. Dalla Bona, C. Catassi, F. Lippi, F. Romano, R. Guerrini, Massimo Resti, ChiaraAzzari. The inclusion of ADA-SCID in expanded new born screening by tandem mass spectrometry Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 88(2014)201–204